



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**

Samilla Catarine de Jesus Santos

**Desenvolvimento do método da desoxirribose para avaliação do
potencial antioxidante dos extratos de plantas do Nordeste**

São Cristóvão (SE)

2020

Samilla Catarine de Jesus Santos

**Desenvolvimento do método da desoxirribose para avaliação do
potencial antioxidante dos extratos de plantas do Nordeste**

Monografia apresentada à disciplina
Iniciação a pesquisa em biologia II, como
requisito para obtenção do grau de Bacharel
em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof. Dra. Brancilene Santos de
Araujo.

**São Cristóvão (SE)
2020**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS por me conceder a vida e me sustentar em todo momento, inclusive na conclusão desse curso. DEUS é maravilhoso.

Agradeço a minha família por todo o apoio, amor e compreensão. Vocês são essenciais na minha vida. Amo vocês.

Agradeço ao meu lindo marido por todo o apoio, cuidado, amor e carinho durante todos esses anos que estamos juntos. Amo você.

Agradeço a Prof. Dra. Brancilene Santos de Araujo por compartilhar comigo seus conhecimentos.

Agradeço ao meus colegas de turma por estarem comigo nessa jornada que trilhamos juntos.

Muito obrigada!

“Porque Deus amou tanto ao mundo que Ele deu o seu filho unigênito, para que todo o que nele crê não pereça, mas tenha a vida eterna.”

João 3.16

“Porque para mim tenho por certo que as aflições deste tempo presente não são para comparar com a glória que em nós há de ser revelada.”

Romanos 8.18

RESUMO

Ao longo do tempo, a civilização humana vem fazendo o uso de produtos naturais como tratamento primário das necessidades de saúde, principalmente nos países em desenvolvimento. Hoje, a ciência tem a medicina popular como um direcionador da pesquisa científica. Pesquisas em diversas áreas do conhecimento científico vem mostrando cada vez mais o potencial benéfico das plantas na prevenção, redução de sintomas e cura de doenças. Os extratos, frações e compostos orgânicos oriundos do metabolismo secundário das plantas possuem atividades biológicas variadas. Nesse contexto, o potencial antioxidante ganhou destaque nos últimos tempos devido as descobertas dos prejuízos causados aos organismos pelo estresse oxidativo. Esse trabalho teve como objetivo adaptar a metodologia do ensaio antioxidante da 2-desoxirribose usando o ácido gálico e os extratos das espécies vegetais *Anadenanthera colubrina* e *Capparis jacobinea* para o mapeamento da atividade antioxidante de extratos e frações no Laboratório de Biotecnologia e Química de Produtos Naturais. Apesar dos resultados não serem conclusivos, em razão da interrupção dos trabalhos experimentais devido a pandemia, verificou-se que a metodologia foi adaptada com sucesso, uma vez que foi verificada a reprodutibilidade da análise, visto que os valores de absorbância das 3 repetições de cada amostra foram, no geral, semelhantes.

Palavras-chave: metabolismo secundário, radicais livres, antioxidante, desoxirribose.

ABSTRACT

Over time, human civilization has been using natural products as the primary treatment of health needs, especially in developing countries. Today, science has the folk medicine as a driver for scientific research. Research in several areas of scientific knowledge has increasingly shown the beneficial potential of plants in preventing, reducing symptoms and curing diseases. Extracts, fractions and organic compounds from secondary plant metabolism have varied biological activities. In this context, the antioxidant potential has gained prominence in recent times due to the discovery of the damage caused to organisms by oxidative stress. This work aimed to adapt the methodology of the 2-deoxyribose antioxidant assay using gallic acid and extracts of the plant species *Anadenanthera colubrina* and *Capparis jacobinea* for mapping the antioxidant activity of extracts and fractions in the Biotechnology and Natural Product Chemistry Laboratory. Although the results are not conclusive due to the interruption of experimental work due to the pandemic, it was found the methodology was successfully adapted as the reproducibility of the analysis was verified, considering the absorbance values of the 3 repetitions for each sample were, in general, similar.

Keywords: secondary metabolism, free radicals, antioxidant, deoxyribose.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	11
2.1 Objetivo Geral.....	11
2.2 Objetivo Específico	12
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1 Produtos Naturais	12
3.2 Oxidação e Radicais Livres	15
3.3 Antioxidante	16
3.4 Nordeste e Bioma Caatinga	17
3.5 <i>Anadenanthera colubrina</i>	18
3.6 <i>Capparis jacobinae</i>	19
3.7 Métodos antioxidantes.....	19
4. METODOLOGIA.....	22
4.1 Reagentes	22
4.2 Extratos.....	22
4.3 Prevenção da oxidação da desoxirribose	22
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6. CONCLUSÃO.....	28
REFERÊNCIAS.....	29

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Estrutura química da artemisinina (1), D-limoneno (2) e α -amirina (3).	13
FIGURA 2. Estrutura química da quercetina (4) e naringenina (5).	14
FIGURA 3. Estrutura química cafeína (6), nicotina (7), morfina (8), quinina (9) e vimblastina (10).	15
FIGURA 4. Estrutura química do nucleotídeo que constitui o DNA. A base nitrogenada pode ser a guanina, timina, citosina ou adenina.	24
FIGURA 5. Mecanismo proposto para a degradação da desoxirribose (CHEESEMAN et al., 1988).	25

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Resultados do teste da desoxirribose frente ao ácido gálico	26
TABELA 2. Resultados do teste da desoxirribose frente ao extrato bruto (EB) e fração acetato de etila (FAE) de <i>Anadenanthera colubrina</i> (AC)	27
TABELA 3. Resultados do teste da desoxirribose frente as frações acetato de etila (FAE) e hexânica (FH) de <i>Capparis jacobinae</i> (CJ)	28

1. INTRODUÇÃO

Buscando sobreviver, o homem primitivo procurava soluções para suas necessidades fundamentais, instintivamente, como moradia, alimentação e cura para as suas enfermidades. Com isso, ao longo do tempo, surgiram descobertas para tratamento de enfermidades por via do uso de diversos tipos de plantas. Até hoje a civilização humana faz uso de produtos naturais como tratamento primário das necessidades de saúde, principalmente nos países em desenvolvimento, buscando o alívio ou a cura de doenças. Essa prática da medicina popular, medicina caseira ou fitoterapia, que faz uso de folhas, flores, frutos, caules, raízes e sementes para produzir, como por exemplo, chás e infusões para tratamento de patologias é extremamente relevante. Consequentemente, a medicina popular se tornou um direcionador da pesquisa científica na área relacionada a produtos naturais (PEREIRA & CARDOSO, 2012; SILVA & LIMA, 2016; BARBOSA *et al.*, 2017).

Por ser um país com uma grande diversidade biológica, o Brasil possui uma vasta gama de matérias-primas para a elaboração de produtos e medicamentos, principalmente com base vegetal devido a sua rica flora. Pesquisas em diversas áreas do conhecimento científico vem mostrando cada vez mais o potencial benéfico das plantas na prevenção, redução de sintomas e cura de doenças de uma forma mais específica e precisa. Esses compostos orgânicos, oriundos do metabolismo secundário das plantas possuem atividades biológicas como: antioxidante, antitumoral, antimicrobiana, antiinflamatória, gastroprotetiva, analgésica, dentre outras (PEREIRA & CARDOSO, 2012; BARBOSA *et al.*, 2017). Nesse contexto, o potencial antioxidante ganhou destaque nos últimos tempos, devido as descobertas dos prejuízos causados aos organismos pelo estresse oxidativo, caracterizado pelos efeitos deletérios das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio conhecidas como radicais livres (PEREIRA, 2013; PRASANTH *et al.*, 2019).

Os radicais livres são produzidos nos organismos de forma natural, porém quando há uma desregulação entre a produção de radicais livres e de antioxidantes ocorre o chamado estresse oxidativo, que causa diversos danos as biomoléculas, como os lipídeos, proteínas e o DNA, trazendo consequentemente grandes prejuízos ao organismo uma vez que eles estão associados a diversas patologias como câncer, diabetes, doenças cardiovasculares, Mal de Parkinson, Alzheimer e doenças oculares como a catarata (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; SOUSA *et al.*, 2007; SEIFRIED *et al.*, 2007;

SILVA *et al.*, 2011; UMEMO; BIJU; YOSHIDA, 2017; DAENEM *et al.*, 2019; KHOSRAVI *et al.*, 2019; AHMAD & AHSAN, 2020; BHAGERI *et al.*, 2020).

Os antioxidantes são substâncias que previnem a oxidação ou regeneram o substrato oxidável, podendo ser classificados em antioxidantes endógenos, isto é, produzidos naturalmente pelo organismo, e antioxidantes exógenos, aqueles obtidos de fontes externas. Os antioxidantes podem ter origem sintética ou natural, no entanto, há um interesse crescente em relação aos antioxidantes naturais (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; VASCONCELOS *et al.*, 2007; MOURA, 2015). Como prevenção à decomposição oxidativa pela ação da temperatura, luminosidade e umidade, o interesse em relação aos antioxidantes vai além daquele demonstrado pelo indivíduo comum, visto que ele também tem crescido nos diferentes ramos das indústrias visando a proteção de produtos como cosméticos, fármacos e alimentos (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; DEL RÉ & JORGE, 2012).

A procura por antioxidantes naturais tem crescido devido aos possíveis problemas que os antioxidantes sintéticos tais como terciobutilhidroxiquinona (TBHQ), butilhidroxitolueno (BHT), propilgalato (PG), entre outros, podem causar como problemas pulmonares, aumento do peso do fígado, câncer e apresentar efeito tóxico, como por exemplo pela produção de espécies reativas de oxigênio (RAMALHO; JORGE, 2006; SOUSA *et al.*, 2007; CAETANO, 2009). A pesquisa e descoberta de antioxidantes naturais permite a substituição dos antioxidantes sintéticos ou até mesmo associá-los (SOUSA *et al.*, 2007). Nesse contexto, é preciso testar a atividade antioxidante de novos compostos com este potencial, o que é feito por meio de ensaios *in vitro* e *in vivo* de natureza geral ou específica e que podem estabelecer a capacidade oxidativa do composto de interesse frente a um alvo específico. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi adaptar a metodologia do ensaio antioxidante da 2-desoxirribose como novo método para o mapeamento da atividade antioxidante de extratos e frações de espécies vegetais, buscando a miniaturização do método, ou seja, tornando-o mais econômico devido as reduções feitas nas concentrações e volumes utilizados.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Adaptar a metodologia do ensaio antioxidante da 2-desoxirribose usando o ácido gálico e os extratos das espécies vegetais *Anadenanthera colubrina* e *Capparis jacobinae*

como novo método para o mapeamento da atividade antioxidante de extratos e frações no Laboratório de Biotecnologia e Química de Produtos Naturais.

2.2 Objetivo Específico

- Adequar os volumes e concentrações dos reagentes usados no método da desoxirribose
- Testar a atividade antioxidante utilizando o método da prevenção da oxidação da desoxirribose miniaturizado
- Analisar os dados quanto a reprodutibilidade do método.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Produtos Naturais

Os produtos naturais são definidos basicamente como qualquer molécula procedente da natureza, podendo ser obtido das mais variadas formas de vida, embora o termo seja correlacionado aos metabólitos secundários em algumas áreas. Eles são uma forma alternativa para o tratamento primário de saúde, principalmente nos países em desenvolvimento, sendo que de acordo com a OMS, 88% dos países membros (170) reconhecem o uso de plantas medicinais *in natura* pela população. Além disso, eles são usados pelas comunidades de diversas formas para as mais diversas finalidades, podendo citar chás e infusões, onde utiliza-se partes das plantas, como folhas e flores, no tratamento de doenças (PEREIRA & CARDOSO, 2012; ARAÚJO, 2015; SILVA & LIMA, 2016; BARBOSA *et al.*, 2017; OMS, 2019).

O metabolismo é a soma de todas as reações anabólicas e catabólicas, sendo dividido em metabolismo primário e metabolismo secundário, possuindo o metabolismo secundário relação direta com o primário, pois algumas moléculas do metabolismo primário são precursoras de metabólitos secundários. O metabolismo primário é responsável pela biossíntese de moléculas como aminoácidos, carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, essenciais a sobrevivência e ao desenvolvimento dos organismos, apresentando distribuição universal e desempenhando funções como fotossíntese e respiração nas plantas (DELBONE; LANDO, 2010; ARAÚJO, 2015).

O metabolismo secundário, diferente do primário, não possui distribuição universal. Estão relacionados as interações das plantas com o ambiente, tendo como principais funções a defesa contra microrganismos e herbívoros, atração de polinizadores,

comunicação entre as espécies, proteção contra radiação UV, proteção contra a oxidação, resistência ao estresse hídrico, entre outras funções. Tais metabólitos são organizados em três grandes grupos (alcaloides, compostos fenólicos e terpenos) e são sintetizados por rotas específicas, sendo elas: a rota do ácido mevalônico, rota do metileritritol fosfato, rota do ácido chiquímico e a rota do ácido malônico, sendo que ocorre variação na quantidade e no tipo de metabólito secundário produzido de espécie para espécie (TAIZ; ZEIGER, 2004; DELBONE; LANDO, 2010; CUNHA *et al.*, 2016).

Os terpenos são constituídos por unidades de isopreno, sendo classificados como hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos e politerpenos, contendo de 5, 10, 15, 20, 30, 40 ou mais de 40 átomos de carbonos em sua estrutura, respectivamente. Eles podem ser quimicamente classificados como hidrocarbonetos. Os terpenos constituem uma grande classe de metabólitos secundários com os mais variados tipos de atividade biológica, por exemplo, podendo citar a artemisinina (uma lactona sesquiterpênica antimalarial, **1**, Figura 1), D-limoneno (um monoterpeno com atividade inseticida, **2**, Figura 1) e α -amirina (um triterpeno com atividade antiinflamatória e antinociceptiva, **3**, Figura 1) (TAIZ; ZEIGER, 2004; COSTA *et al.*, 2008; MARTINS, 2016; CRUZ MONTEIRO & BRANDELLI, 2017).

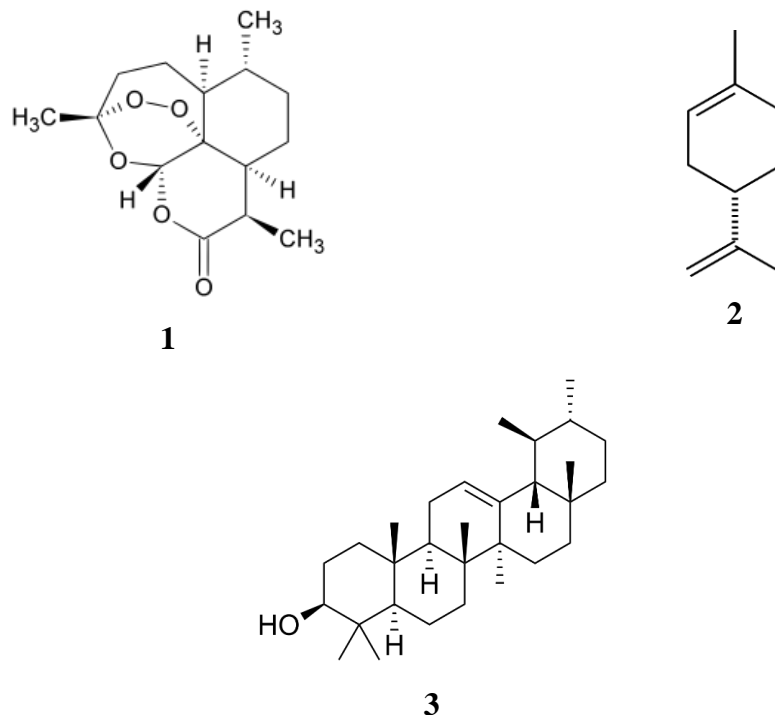


FIGURA 1. Estrutura química da artemisinina (1), D-limoneno (2) e α -amirina (3).

Os compostos fenólicos são caracterizados pela presença de pelo menos um anel aromático, onde no mínimo um hidrogênio é substituído por uma hidroxila. A coloração,

sabor e odor dos vegetais são provenientes dos compostos fenólicos que também estão relacionados a atração de polinizadores, proteção contra microrganismos, eliminação de radicais livres, entre outros. Estes compostos também apresentam as propriedades antioxidantes, antitumoral, antivirais, anti-inflamatórios e antimicrobianos. Existem várias classes de compostos fenólicos, tais como flavonoides, fenilpropanóides, taninos, quinonas, xantonas, ligninas, estilbenos, entre outras (TAIZ; ZEIGER, 2004; GURIB-FAKIM, 2006; ROMAGNOLO; SELMIN, 2012; CRUZ MONTEIRO & BRANDELLI, 2017), dos quais podemos destacar os flavonóides visto que são conhecidos mais de 5000 compostos desta classe e podemos citar a quercetina (um flavonol antioxidante, **4**, Figura 2) e a naringenina (uma flavanona com propriedades antioxidante, antitumoral, antibacteriano e antiinflamatório, **5**, Figura 2) (VERVERIDIS *et al.*, 2007; CRUZ MONTEIRO & BRANDELLI, 2017; STEC *et al.*, 2020).

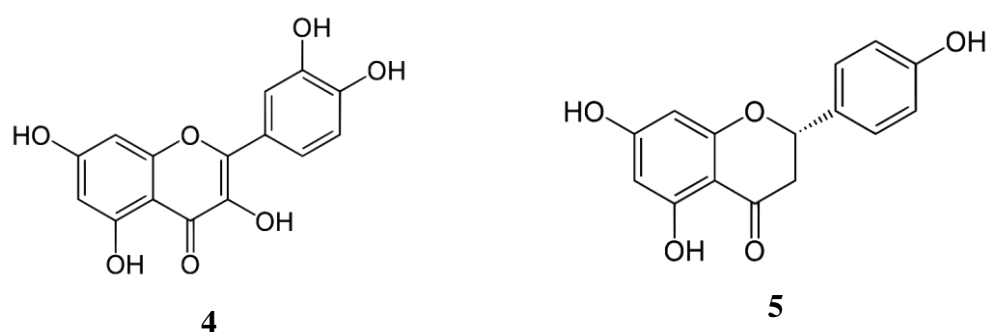


FIGURA 2. Estrutura química da quercetina (4) e naringenina (5).

Os alcalóides são compostos nitrogenados oriundos dos aminoácidos tirosina, lisina e triptofano. Os alcalóides estão relacionados a germinação, crescimento e proteção das plantas e são substâncias que, quando utilizadas em altas concentrações, apresentam efeito tóxico. Assim como visto para os terpenos e flavonóides, os alcalóides também são distribuídos em diversas classes, tais como pirrolizidina, tropano, piperidina, isoquinolina, quinolina, indol, purina, entre outros. Entre os alcalóides mais conhecidos estão a cafeína (estimulante do sistema nervoso central, **6**, Figura 3), nicotina (um alcalóide pirrolidínico estimulante do sistema nervoso, **7**, Figura 3), morfina (alcalóide da *Papaver somniferum* com atividade analgésica, **8**, Figura 3), quinina (um alcalóide da *Cinchona* sp. com atividade antimalarial, **9**, Figura 3) e vimblastina (um alcalóide da *Catharanthus roseus* com atividade antitumoral, **10**, Figura 3) (TAIZ; ZEIGER, 2004; GURIB-FAKIM, 2006; CRUZ MONTEIRO & BRANDELLI, 2017).

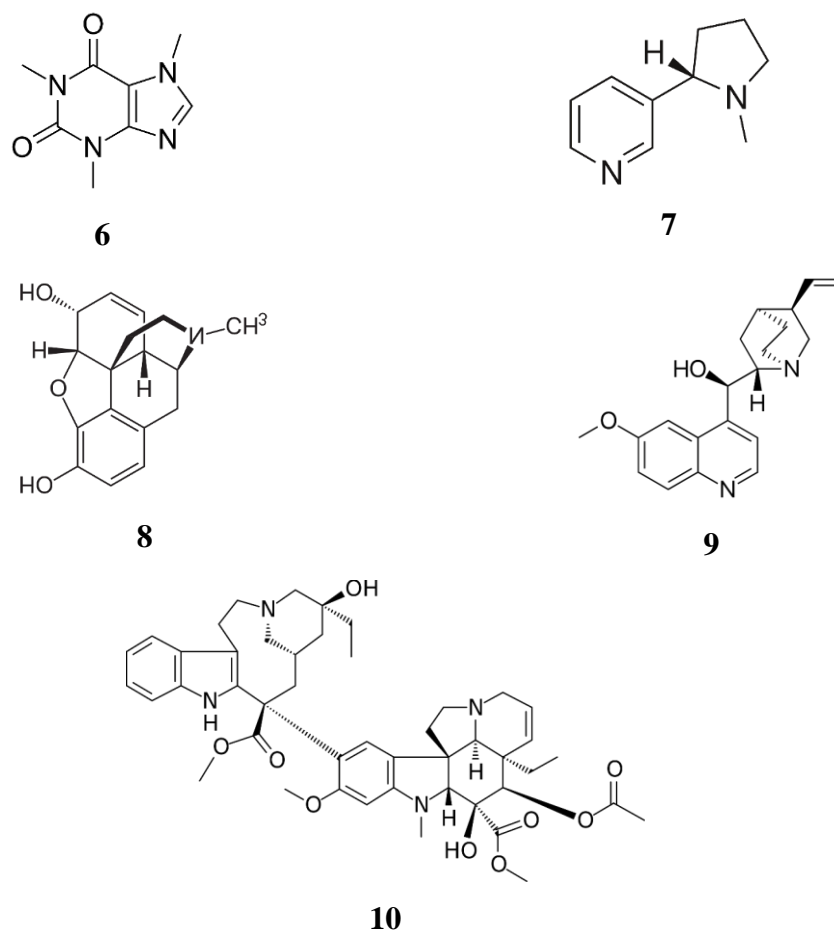


FIGURA 3. Estrutura química cafeína (6), nicotina (7), morfina (8), quinina (9) e vimblastina (10).

3.2 Oxidação e Radicais Livres

A oxidação era há algum tempo atrás definida como a adição de oxigênio a estrutura de alguma substância. Hoje, de um modo geral, a oxidação é definida como a perda de elétrons para outra substância, e o ganho de elétrons é definido como redução (ALVES *et al*, 2010). Os processos metabólicos de todos os seres vivos aeróbios estão associados a processos de oxidorredução, sendo a redução associada ao anabolismo e a oxidação relacionada ao catabolismo, ambas estão envolvidas na formação de radicais livres (BARBOSA *et al.*, 2014). Os radicais livres, como por exemplo, as espécies reativas de oxigênio (ERO) e as espécies reativas de nitrogênio (ERN), que possuem elétron desemparelhado centrado no átomo de oxigênio e nitrogênio respectivamente, são produzidos nos seres vivos de forma natural ou devido a algum distúrbio biológico, que pode ter como ponto de partida fontes externas ao organismo como fumo, radiação,

poluição ambiental, entre outros (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; VASCONCELOS *et al.*, 2007; PRASANTH *et al.*, 2019).

Essenciais para a homeostase da célula e funcionamento apropriado dos organismos, os radicais livres estão relacionados a síntese de substâncias biológicas, fagocitose, produção de energia, entre outros. Porém, quando em grande quantidade, pode causar danos às biomoléculas, como agressão a carboidratos, peroxidação lipídica, dano a proteínas, enzimas e DNA. Esse excesso de radicais livres é o causador ou o agravante de diversas enfermidades como doenças cardiovasculares, câncer, artrite, disfunções cerebrais, AIDS, choque hemorrágico, catarata, declínio do sistema imune e envelhecimento cutâneo. Os principais radicais livres provenientes do oxigênio estão divididos em dois grupos, os radicalares e os não radicalares. Entre os radicalares encontra-se o superóxido, alcoxila, peroxila e o radical hidroxila. Já entre os não radicalares encontra-se o peróxido de hidrogênio, oxigênio e ácido hipocloroso. Com relação as espécies reativas de nitrogênio encontram-se os peroxinitritos, óxido nitroso, óxido nítrico, ácido nitroso, nitratos e nitritos. Deve-se notar que entre os radicais livres existem espécies mais ou menos reativas, porém, todos são espécies prejudiciais às moléculas biológicas quando em excesso (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; SOUSA *et al.*, 2007; BARBOSA *et al.*, 2014; SANTA-GONZÁLEZ e CAMARGO, 2016; UMENO; BIJU; YOSHIDA, 2017; DAENEM *et al.*, 2019; KHOSRAVI *et al.*, 2019; PRASANTH *et al.*, 2019; AHMAD & AHSAN, 2020; BHAGERI *et al.*, 2020).

Entre esses radicais livres o radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$) é o mais reativo e mais prejudicial, sendo o principal agressor das bases nitrogenadas e da desoxirribose que compõem o DNA. Essa agressão pode causar a ruptura do DNA, permitindo assim que mutações ocorram, tendo como uma das consequências a carcinogênese. Com base nos riscos à saúde apresentados pelos radicais livres, a busca de substâncias com potencial antioxidante tem recebido especial atenção nos últimos anos (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; BORGES, 2017).

3.3 Antioxidante

A resposta dos organismos ao estresse oxidativo, denominação para o excesso de radicais livres, compreende o uso de sistemas de defesa antioxidante. Os antioxidantes são substâncias que, em pequenas quantidades em comparação ao substrato oxidável, previnem a oxidação ou regeneram o substrato. O sistema antioxidante é formado pelo

sistema endógeno e o sistema exógeno. O sistema antioxidante endógeno é dividido em dois tipos: enzimáticos e não enzimáticos. O sistema antioxidante enzimático é composto de enzimas como a superóxido dismutase, catalase, glutational peroxidase e glutational redutase (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; VASCONCELOS *et al.*, 2007). Com relação ao sistema de defesa antioxidante endógeno não enzimático, este é representado por diversas moléculas orgânicas como a glutational, ubiquinona, ácido úrico, transferrina, ferritina e peptídeos de histidina. Além disso, temos o sistema exógeno de antioxidantes, que é composto por diferentes substâncias obtidas basicamente da dieta, podendo citar os carotenóides (como o β -caroteno), tocoferóis (como o α -tocoferol), ácido ascórbico e compostos fenólicos como flavonoides, poliflavonóides, ácidos fenólicos, ácido lipóico, taninos e outros (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; VASCONCELOS *et al.*, 2007; CUNHA *et al.*, 2016; BORGES, 2017).

3.4 Nordeste e Bioma Caatinga

A região Nordeste, que possui uma rica biodiversidade e apresenta como características climáticas precipitação média anual em aproximadamente 750 mm, temperatura média de 26 °C e baixa umidade, detém um bioma de singular importância denominado Caatinga, termo proveniente do tupi-guarani que quer dizer mata branca. A Caatinga, bioma exclusivamente brasileiro, possui uma grande variedade de plantas medicinais, devido à alta produção de metabólitos secundários como estratégia de sobrevivência em um ambiente tão inóspito, pois esse bioma possui como uma de suas características o clima quente e semiárido, com longos períodos de estiagem (QUEIROZ *et al.*, 2006; ALVES; ARAÚJO; NASCIMENTO, 2009; MOTA, 2016). Ocupando uma área de aproximadamente 750.000 km² e distribuindo-se pelos os estados de Sergipe, Alagoas, Bahia, Ceará, Paraíba, Maranhão, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Piauí e o Norte de Minas Gerais, este bioma abrange 11% do território brasileiro e 70% do território nordestino, apresentando, portanto, elevado endemismo.

A vegetação da região é do tipo arbustivo-arbórea, com presença de espinhos, apresentando caducifolia e contendo cactáceas e bromeliáceas como mais algumas de suas características (QUEIROZ *et al.*, 2006; ALVES; ARAÚJO; NASCIMENTO, 2009; CORDEIRO & FÉLIX, 2014). A literatura identificou a presença de 22 a 119 espécies com potencial medicinal na região, as quais estão distribuídas nas famílias Fabaceae (*Anadenanthera colubrina*), Anacardeaceae (*Myracrodruon urundeuva*), Sapotaceae

(*Sideroxylon obtusifolium*), Myrtaceae (*Syzygium cumini*), Celastraceae (*Maytenus rigida*), Euphorbiaceae (*Croton argyrophyllus*), Capparaceae (*Capparis jacobinae*), entre outras (PRIMO & MACHADO, 2009; PEREIRA JUNIOR *et al.*, 2014), as quais também tem sido objeto de estudo do grupo de pesquisa “Plantas da Região Semi-Árida Nordestina Com Fins Terapêuticos” da Universidade Federal de Sergipe, incluindo o laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioquímica e o Laboratório de Biotecnologia e Química de Produtos Naturais e já apresentaram importantes atividades antioxidantes por diferentes testes.

3.5 *Anadenanthera colubrina*

Presente no bioma Caatinga e pertencente à família Fabaceae, subfamília Mimosoideae, a *Anadenanthera colubrina*, popularmente chamada de angico-liso ou angico-branco, planta arbórea que possui de 15 a 23 m de altura, apresenta aplicações econômicas, culturais e medicinais importantes. Sendo utilizada na medicina popular, através de alguns preparos como infusão e maceração, no tratamento de faringites, problemas respiratórios, depurativo, homeostático, problemas estomacais, antidiarreico, no tratamento de inflamações, bronquites, tosse, entre outros. A *A. colubrina* apresenta diversas outras utilidades como: arborização de estradas, parques e ruas, usada na marcenaria, carpintaria, como madeira para construção, carvão, forragem, tingimento de redes de pesca, lenha, para recuperação de áreas degradadas e de mata ciliar, entre outros. Algumas de suas propriedades medicinais são cientificamente comprovadas, como a atividade antimicrobiana, antioxidante e efeitos imunomodulatório, e estão relacionadas a presença de moléculas como flavonóides, quinonas, cumarinas, lignanas e taninos, relacionadas também ao potencial antioxidante (REGO *et al.*, 2011; CORDEIRO & FÉLIX, 2014; VIANA *et al.*, 2014; MOTA, 2016; PEREIRA, 2013). Os estudos realizados por MOURA (2015) e SILVA, AGUIAR e FREITAS (2020) mostraram que a *Anadenanthera colubrina* é uma fonte importante de compostos antioxidantes, porém, MOURA (2015) salientou que há necessidade de investigação voltado a proteção ao DNA.

3.6 *Capparis jacobinae*

Outro exemplar encontrado na região nordeste, bioma caatinga, é *Capparis jacobinae* pertencente à família Capparaceae. Distribuída amplamente pelo mundo, a família Capparaceae, subfamílias Capparoideae e Cleomoideae, é constituída de 25 gêneros e cerca 500 espécies, ocorre principalmente nas regiões tropicais e subtropicais, sendo 12 gêneros e 28 espécies encontradas no Brasil, contabilizando 12 espécies endêmicas. Algumas das características das plantas que compõe a família Capparaceae são: fruto carnoso, folhas simples ou 3-folioladas e hábito lenhoso.

A espécie *C. jacobinae*, vulgarmente conhecida como Icó, Icó-preto ou Icó-verdadeiro, encontrada no bioma caatinga, é um arbusto ou árvore que possui aproximadamente 5 m de altura, com inflorescências terminais racemosas e fruto anfisarca (não globoso). Espécie endêmica que ocorre nos estados da Bahia, Rio Grande do Norte, Paraíba, Ceará, Alagoas, Sergipe e Pernambuco, é comumente usada como alimento, forragem, no uso veterinário, entre outros. A espécie apresenta propriedade anti-inflamatória e é usada no tratamento de doenças de pele, febre, problemas digestivos, diabetes e outros (FERREIRA JÚNIOR, 2011; SIQUEIRA, 2011; SOARES NETO *et al.*, 2014; SOARES NETO, 2015). Destaca-se aqui a inexistência de registro sobre a investigação farmacológica desta espécie na literatura, incluindo sua atividade antioxidante, sendo assim, é ressaltado a necessidade de pesquisas relacionados ao perfil químico da espécie supracitada.

3.7 Métodos antioxidantes

Os vários métodos disponíveis para avaliar a atividade antioxidante *in vitro* são de extrema importância pois auxiliam os pesquisadores, direcionando a triagem de substâncias naturais e/ou sintéticas para possíveis estudos. Dificilmente haverá um teste universal pelo qual poderá ser avaliada a atividade antioxidante de forma específica e quantitativa, pois existem diversos tipos de radicais livres e variados tipos de ação nos seres vivos. Assim, o número de métodos capazes de avaliar a atividade antioxidante de forma mais rápida, precisa e eficaz tem aumentado, podendo citar ORAC (oxygen radical absorbance capacity) baseado na captura do radical peroxila, o DPPH (peroxidação do 2,2-difenil-1-picrylhydrazil) que se baseia na captura do radical orgânico do DPPH, o ABTS que se baseia na captura do radical orgânico 2,20-azino-bis-(ácido 3-

ethylbenzthiazoline-6-sulfônico), o método da desoxirribose baseado no sequestro do radical hidroxila, dentre outros (RUFINO *et al.*, 2007; ALVES *et al.*, 2010; SUCUPIRA *et al.*, 2012; RAJAN *et al.*, 2020).

Considerado um método simples, preciso e de alta reprodutibilidade, o método DPPH pode testar a atividade antioxidante de substâncias puras, extratos vegetais e sucos de frutas. Esse método avalia a capacidade de uma certa substância em sequestrar o radical livre nitrogenado 2,2-difenil-1-picril-hidrazil, que é uma molécula estável com coloração roxa, que se consegue através da dissolução do reagente em meio orgânico. Porém, quando uma substância com atividade antioxidante age como doador de elétron ou próton ocorre a redução do 2,2-difenil-1-picril-hidrazil a hidrazina, com mudança de coloração do roxo a amarelo pálido, produzindo um decaimento da absorbância a 515 nm. (RUFINO *et al.*, 2007; ALVES *et al.*, 2010; NARANJO; VELEZ; ROJANO, 2011)

Por outro lado, o método ORAC é baseado na capacidade de um antioxidante em inibir a oxidação causada pelo radical peroxila. Esse método utiliza a propriedade fluorescente da proteína fotossintética ficoeritrina como alvo dos radicais livres e como marcador de fluorescência. Nesse teste, um produto não fluorescente é obtido através da reação do marcador fluorescente com o radical peroxila formado pela reação do AAPH [dicloreto de 2,2'-azobis(2-amidinopropano)] com oxigênio atmosférico. A capacidade antioxidante é calculada da medida da área sob a curva de diminuição da fluorescência entre o branco e a amostra, onde é verificado o tempo de inibição e o quanto o antioxidante inibiu o radical, o que é medido espectrofotometricamente com emissão de fluorescência em 565 nm. Nesse teste, o Trolox é tido como padrão e os resultados são expressos em equivalentes de Trolox ou unidades de ORAC (VASCONCELOS *et al.*, 2007; ALVES *et al.*, 2010; NARANJO; VELEZ; ROJANO, 2011).

O teste do ABTS se baseia na mudança da coloração do meio reacional, que é caracterizado pela redução da absorbância em 415 nm do radical catiônico ABTS●⁺ (2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato)). Este radical é inibido por compostos antioxidantes em meio aquoso ou orgânico, dependendo da amostra a ser testada, podendo ser substâncias lipossolúveis ou hidrossolúveis. Esse teste apresenta boa estabilidade e reprodutibilidade e pode testar a atividade antioxidante de extratos vegetais e compostos puros. Os resultados de absorbância são obtidos de acordo com o tempo de reação e concentração da amostra usada após o radical ser misturado com o antioxidante, sendo que o resultado é expresso em razão do Trolox utilizado como padrão (VASCONCELOS *et al.*, 2007; SUCUPIRA *et al.*, 2012).

Assim, cada método tem uma função e um tipo de radical livre alvo. Nesse contexto, temos ainda o método da desoxirribose, que é específico para determinar a capacidade de algumas moléculas orgânicas em sequestrar o radical hidroxila antes que ele ataque a desoxirribose, que é o carboidrato do DNA. O método da desoxirribose é específico para analisar o dano causado pela oxidação a desoxirribose por um agente oxidante, podendo ser modificado para análise de outras atividades como quelante e pró-oxidante, retirando do processo o EDTA e o ácido ascórbico, respectivamente. O método é baseado na reação de Fenton, onde o cloreto férrico (FeCl_3) e o EDTA, na presença de ácido ascórbico, reagem para formar o complexo Ferro(II)-EDTA, que reage com o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) formando radicais hidroxila ($\text{OH}\cdot$), que atacam a desoxirribose. O malonaldeído formado pela degradação oxidativa da desoxirribose, quando aquecido em pH baixo com o ácido tiobarbitúrico (TBA) produz um cromógeno de cor rosa. Os antioxidantes quando adicionados a essa mistura de reação competem com a desoxirribose pelos radicais hidroxila formados, com isso ocorre a diminuição da formação de cor (HALLIWELL, GUTTERIDGE, ARUOMA, 1987; GIÃO *et al.*, 2008; ALVES *et al.*, 2010; SANTANA *et al.*, 2013; CHEN *et al.*, 2016).

Esse método tem se mostrado simples e de baixo custo, mas, para resultados mais precisos, algumas observações devem ser levadas em conta como por exemplo: o composto com potencial antioxidante não deve reagir diretamente com o peróxido de hidrogênio, pois se isso ocorrer não há a formação do radical $\text{OH}\cdot$. Além disso, o produto gerado da reação do antioxidante com o radical hidroxila não deve apresentar formação de cor (HALLIWELL, GUTTERIDGE, ARUOMA, 1987; ALVES *et al.*, 2010). Outrossim, devido a meia-vida extremamente curta e por ser altamente reativo, reagindo próximo ao local onde foi gerado, o radical hidroxila é o mais deletério ao organismo e o mais difícil de ser sequestrado *in vivo* (ALVES *et al.*, 2010; MOURA, 2015).

Considerando todos os métodos apresentados, deve-se salientar que pode haver diversidade nas condições de ensaio dos mesmos em razão de ajustes e modificações, o que significa alterações no tempo de reação ou incubação, aquecimento e concentrações de trabalho utilizadas, por exemplo, os quais deverão ser ajustados ainda de acordo com os solventes e equipamentos disponíveis (HALLIWELL, GUTTERIDGE, ARUOMA, 1987; SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999; GIÃO *et al.*, 2008; ALVES *et al.*, 2010; SANTANA *et al.*, 2013; CHEN *et al.*, 2016).

4. METODOLOGIA

4.1 Reagentes

O ácido ascórbico, fosfato monobásico (NaH_2PO_4) e dibásico (NaH_2PO_4) de sódio e cloreto férrico (FeCl_3) usados foram da marca Dinâmica. O ácido gálico (AG), ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), ácido tricloroacético (TCA), ácido tiobarbitúrico (TBA) e a desoxirribose foram da SIGMA. O peróxido de hidrogênio 10V (3%) foi da marca Dauf.

4.2 Extratos

Para o presente trabalho, foram selecionados os extratos de *A. colubrina* (fração acetato de etila e extrato bruto da entrecasca) e de *C. jacobinae* (fração acetato de etila e fração hexânica da entrecasca) que encontravam-se armazenados a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ no freezer do Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioquímica, Departamento de Fisiologia, sob responsabilidade do Prof. Dr. Charles Estevam, tendo sido os mesmos obtidos por discentes de iniciação científica, mestrado e doutorado do referido laboratório. Os extratos destas plantas foram usados para implementação dos testes no Laboratório de Biotecnologia e Química de Produtos Naturais, sob responsabilidade da Profa. Dra. Brancilene Santos de Araújo, juntamente com o ácido gálico (Sigma, EUA). Todos os extratos disponíveis e o ácido gálico foram descongelados e ressuspensos em solvente apropriado (etanol 50%) para as análises seguintes.

4.3 Prevenção da oxidação da desoxirribose

Para a avaliação da habilidade dos extratos em prevenir o dano oxidativo relacionado a desoxirribose, o carboidrato do DNA, foi usado o modelo de Fenton discutido acima (CHEN *et al.*, 2016). A mistura reacional, apresentando 2 mL no volume total, contendo 1 mL da amostra em diferentes concentrações, 360 μL de desoxirribose (0,01 mol/L), 100 μL H_2O_2 (0,01 mol/L), 10 μL de FeCl_3 (0,01 mol/L), 100 μL de EDTA (0,001 mol/L) em 330 μL de tampão fosfato de potássio (100 mmol/L, pH 7.4) foi agitada por inversão três vezes e foi incubada a $37\text{ }^\circ\text{C}$ por 1 h após a adição de 100 μL de ácido ascórbico (0,001 mol/L). Logo após o tempo de incubação, 700 μL da mistura reacional foram transferidos para um novo tubo Eppendorf onde foi adicionado 700 μL de TBA

0,5% e 700 µL de TCA 10% com posterior agitação por inversão. A absorbância das misturas foi determinada espectrofotometricamente a 530 nm. O ácido gálico foi usado como controle positivo. Os resultados foram expressos como média das absorbâncias obtidas (HALLIWELL; GUTTERIDGE; ARUOMA, 1987; BUDNI *et al.*, 2007).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como pode ser observado no exposto acima, os métodos antioxidantes tem alvo diferenciado, de modo que o uso dos mesmos fornece um perfil a amostra quanto ao tipo de radical que ele pode inibir (peroxila, hidroxila, radicais nitrogenados, etc). Nesse contexto, estes métodos são frequentemente aplicados aos extratos e frações de plantas cultivadas *in vitro* no Laboratório de Biotecnologia e Química de Produtos Naturais (LBQPN) do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Sergipe, exceto pelo método da desoxirribose, que precisava ser miniaturizado e padronizado para emprego no referido laboratório.

O DNA é composto de nucleotídeos formados por bases nitrogenadas (adenina, timina, guanina e citosina), o carboidrato desoxirribose e o grupo fosfato (Figura 4), sendo que as bases nitrogenadas e a hidroxila na posição 3 do carboidrato são suscetíveis ao ataque de radicais livres como o radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$) quando estes são produzidos em abundância nas células. No caso das células eucarióticas, se este radical chega ao núcleo celular, ele pode provocar a quebra das fitas do DNA pela reação com as bases nitrogenadas e/ou dextrorribose, sendo que neste último caso ocorre a produção de malondialdeído (CHEESEMAN *et al.*, 1988; BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; GIÃO *et al.*, 2008; LUQMAN; KUMAR, 2012; BORGES, 2017; CHEN *et al.*, 2016). Assim, para investigar o potencial de extratos e frações para neutralizar os radicais livres derivados de oxigênio e minimizar a ação destes sobre o DNA, foi desenvolvido o método da desoxirribose (CHEESEMAN *et al.*, 1988; GIÃO *et al.*, 2008; LUQMAN; KUMAR, 2012; CHEN *et al.*, 2016).

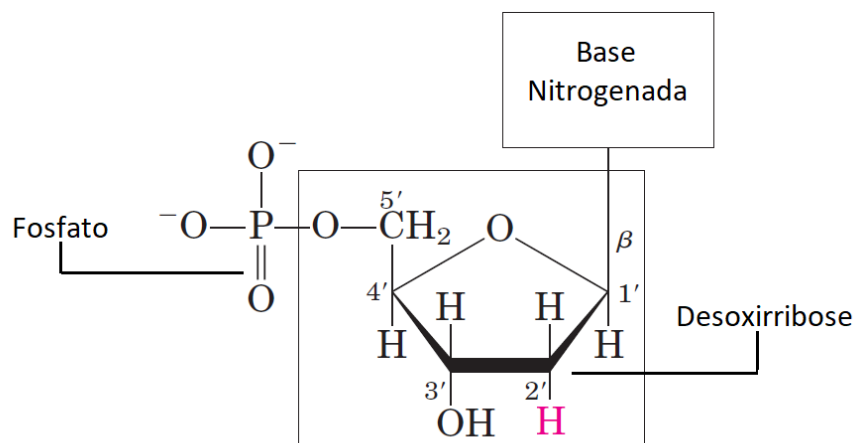


FIGURA 4. Estrutura química do nucleotídeo que constitui o DNA. A base nitrogenada pode ser a guanina, timina, citosina ou adenina (NELSON; COX, 2008)..

O método da desoxirribose baseia-se no dano oxidativo do carboidrato do DNA causado pela reação de Fenton (Figura 5) induzida no sistema Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 /Ácido ascórbico. Nesse caso, o malonaldeído produzido a partir da degradação do carboidrato pode então ser quantificado espectrofotometricamente após a reação com TBA/TCA. A Figura 5 mostra o mecanismo proposto na literatura (CHEESEMAN et al., 1988) para esta reação, onde o ácido ascórbico funciona como um potencializador da produção de radicais hidroxila. Resumidamente, o Fe^{3+} sofre uma redução a Fe^{2+} em presença de H_2O_2 , que dará origem ao radical peroxila $\bullet\text{OOH}$ (Reação 1). O Fe^{2+} formado vai reagir com uma segunda molécula de H_2O_2 para formar o radical hidroxila $\bullet\text{OH}$ (Reação 2). Em seguida, este radical hidroxila reagirá com a desoxirribose (Reação 3; composto A), inicialmente removendo o H do carbono 4 do carboidrato para formar intermediário reativo radicalar B contendo um elétron desemparelhado no carbono 4. Este intermediário reagirá então com oxigênio (O_2) para formar o intermediário reativo C contendo um grupo peroxila em sua estrutura que será reduzido ao intermediário reativo D.

O rompimento da ligação entre os carbonos 3 e 4 do intermediário reativo D provocará a abertura do anel desoxirribose com a consequente formação do intermediário E, contendo uma carbonila de aldeído ($\text{C}=\text{O}$) no carbono 4 e um hidroxila e um elétron desemparelhado no carbono 3. O intermediário F será formado pela subsequente oxidação do carbono 3 do intermediário E, que passará de carbono de hidroxila à carbonila de aldeído em razão da remoção do H radicalar ($\bullet\text{H}$) do carbono 3. Finalmente, o composto

F sofre nova abertura de anel entre o oxigênio e carbono 1, devido ao tautomerismo entre as formas cíclicas e abertas dos carboidratos, para formar o malonaldeído (MDA).

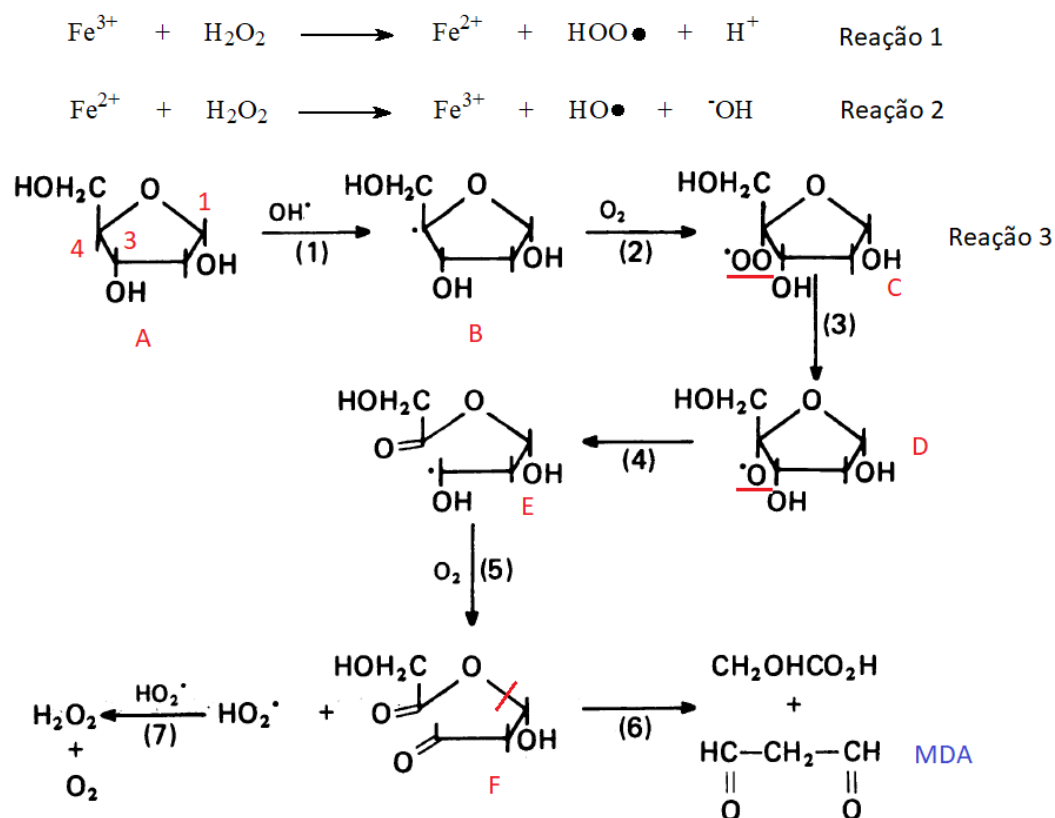


FIGURA 5. Mecanismo proposto para a degradação da desoxirribose (CHEESEMAN *et al.*, 1988).

Uma vez que o objetivo do trabalho era implementar o método da desoxirribose no Laboratório de Biotecnologia com a consequente redução dos volumes e concentrações dos solventes usados, inicialmente foi testada a redução das concentrações e do volume total dos reagentes usados no protocolo de CHEN *et al.* (2016) para verificar a funcionalidade do mesmo. Nesse contexto, a mistura reacional daquele trabalho tinha volume total de 3,5 mL previamente à adição de TBA/TCA, sendo que no presente estudo a mistura reacional final teve volume total de 2 mL, com a concomitante redução pela metade das concentrações de todos os reagentes, exceto o tampão fosfato, que foi usado 100 mM contra 20 mM do trabalho de Chen *et al.* (2016). Quanto ao TBA e TCA, as concentrações destes reagentes foram mantidas, mas os volumes usados dos mesmos foram reduzidos de 1 mL (1000 µL) para 700 µL. Nesse contexto, o volume final da reação a ser lido no espectrofotômetro foi de 2,1 mL (700 µL da reação inicial + 700 µL

TBA + 700 μ L TCA), enquanto que no trabalho original esse volume total foi de 5,5 mL.. Volumes menores podem ser ainda usados, mas deve-se considerar que as reações deverão ser lidas pelo menos em duplicata. No caso do Laboratório de Biotecnologia, um limitador foi o tamanho das cubetas disponíveis que precisam de volume mínimo de 2 mL para leitura no espectrofotômetro. O uso de microcubetas ou placas de ELISA podem garantir uma redução adicional dos volumes de todos os reagentes.

Com base no protocolo modificado inicialmente usado, a tabela 1 mostra que o ácido gálico apresentou absorção média de $0,0623 \pm 0,0135$ a $0,331 \pm 0,0165$ para as concentrações variando de 2 a 5 mg/mL, cabendo novos experimentos com outras concentrações do ácido gálico para ajustar o mesmo com vistas a fazer uma curva de calibração que cubra o intervalo de absorbância variando de 0 a 1,000 ABS, que é a faixa linear de absorbância conforme a lei de Lambert-Beer. Como pode ser observado para os valores individuais de cada amostra para cada concentração, o método apresentou boa reprodutibilidade pois os três valores de cada amostra apresentaram-se, no geral, muito próximos uns dos outros.

Tabela 1. Resultados do teste da desoxirribose frente ao ácido gálico

Concentração (mg/mL)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média
2,00	0,064	0,075	0,048	$0,0623 \pm 0,0135a$
3,00	0,133	0,137	0,108	$0,1260 \pm 0,0157b$
5,00	0,339	0,312	0,342	$0,3310 \pm 0,0165c$

Análise estatística: ANOVA de uma via seguida de teste de Tukey. Amostras com letras diferentes indicam que elas são significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Com vistas a testar o procedimento proposto com extratos e frações, foram escolhidas as plantas *A. colubrina* e *C. jacobinae* como padrão para teste. Nesse contexto, a absorção média para a *A. colubrina* variou de $0,0226 \pm 0,0030$ a $0,2226 \pm 0,0035$ para o extrato bruto etanólico da entrecasca desta planta (AC-EB) e $0,0116 \pm 0,0005$ a $0,2726 \pm 0,0090$ para a fração acetato de etila (AC-FAE) obtida do extrato bruto etanólico da entrecasca de *A. colubrina*. Embora tenha-se observado uma boa reprodutibilidade do método para o extrato e a fração, o AC-EB não atendeu ao comportamento esperado para os valores de absorbância com base na lei de Lambert-Beer, que informa que absorbância é diretamente proporcional a concentração. Da tabela

2, observa-se que os valores de absorvância para as concentrações de 0,25 e 0,50 mg/mL e também 4 e 6 mg/mL não diferiram significativamente ($p>0.05$). Isto pode se dever ao comportamento sinérgico dos diferentes compostos presentes no AC-EB, que podem estar inibindo a reação, cabendo por exemplo, uma agitação mais vigorosa para separar os mesmos e permitir um melhor contato do AC-EB com os componentes da mistura reacional.

A AC-FAE apresentou comportamento cinético esperado pela Lei de Lambert-Beer, com a proporcionalidade da concentração versus a absorvância sendo respeitada. A fração é resultado do particionamento do AC-EB, de modo que há menos compostos na mesma e, conseqüentemente, é teoricamente o sinérgismo e/ou antagonismo entre as substâncias presentes no meio, facilitando a interação dos mesmos com a mistura reacional. Entretanto, não foi possível calcular o equivalente de ácido gálico visto que a curva de calibração deste padrão não foi estabelecida em razão da interrupção dos trabalhos laboratoriais em razão da pandemia.

Tabela 2. Resultados do teste da desoxirribose frente ao extrato bruto (EB) e fração acetato de etila (FAE) de *Anadenanthera colubrina* (AC).

EXTRATO	Concentração (mg/mL)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média
AC-EB	0,25	0,026	0,020	0,022	$0,0226 \pm 0,0030a$
	0,50	0,024	0,023	0,024	$0,0236 \pm 0,0005a$
	2,00	0,102	0,096	0,100	$0,0993 \pm 0,0030b$
	4,00	0,195	0,177	0,178	$0,1833 \pm 0,0101c$
	6,00	0,226	0,219	0,223	$0,2226 \pm 0,0035d$
AC-FAE	0,25	0,011	0,012	0,012	$0,0116 \pm 0,0005a$
	0,50	0,018	0,017	0,018	$0,0176 \pm 0,0005a$
	2,00	0,077	0,078	0,078	$0,0776 \pm 0,0005b$
	4,00	0,168	0,125	0,140	$0,1443 \pm 0,0218c$
	6,00	0,283	0,269	0,266	$0,2726 \pm 0,0090d$

Análise estatística: ANOVA de uma via seguida de teste de Tukey. Amostras com letras diferentes indicam que elas são significativamente diferentes ($p<0.05$)

A tabela 3 apresenta os resultados observados para as frações hexânica (CJ-HX) e acetato de etila (CJ-FAE) obtidas do extrato etanólico bruto da entrecasca de *C.*

jacobinae. A CJ-HX teve absorvâncias variando de $0,0176 \pm 0,0040$ a $0,9796 \pm 0,0508$, com boa reprodutibilidade e absorvâncias se estendendo por todo o intervalo linear de absorvância de acordo com a Lei de Lambert-Beer (0 a 1,000 ABS). A CJ-FAE também apresentou boa reprodutibilidade neste intervalo com absorvâncias variando de $0,0140 \pm 0,0121$ a $0,7213 \pm 0,0080$. As concentrações mais baixas (0,25 e 0,50 mg/mL) da CJ-FAE apresentaram resultante similar, não diferindo estatisticamente. Acima destes valores, os valores médios de absorção observados foram diferentes e obedeceram ao comportamento esperado pela lei de Lambert-Beer, isto é, absorvâncias proporcionais as concentrações, o que foi observado para todas as concentrações da CJ-FH.

Tabela 3. Resultados do teste da desoxirribose frente as frações acetato de etila (FAE) e hexânica (FH) de *Capparis jacobinae* (CJ).

EXTRATO	Concentração (mg/mL)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média
CJ-FAE	0,25	0,022	0,017	0,014	$0,0176 \pm 0,0040a$
	0,50	0,031	0,029	0,031	$0,0303 \pm 0,0011a$
	2,00	0,215	0,196	0,264	$0,2250 \pm 0,0350b$
	4,00	0,466	0,461	0,474	$0,4670 \pm 0,0065c$
	6,00	0,921	1,010	1,008	$0,9796 \pm 0,0508d$
CJ-FH	0,25	0,001	0,016	0,025	$0,0140 \pm 0,0121a$
	0,50	0,036	0,049	0,060	$0,0483 \pm 0,0120b$
	2,00	0,237	0,232	0,251	$0,2400 \pm 0,0098c$
	4,00	0,505	0,519	0,508	$0,5106 \pm 0,0073d$
	6,00	0,729	0,713	0,722	$0,7213 \pm 0,0080e$

Análise estatística: ANOVA de uma via seguida de teste de Tukey. Amostras com letras diferentes indicam que elas são significativamente diferentes ($p < 0.05$).

6. CONCLUSÃO

Apesar dos resultados não serem conclusivos em razão da interrupção dos trabalhos experimentais em razão da pandemia, foi possível verificar que a metodologia proposta funcionou, uma vez que foi verificada a reprodutibilidade da análise, visto que os valores de absorvância das 3 repetições de cada amostra foram, no geral, semelhantes.

A redução da concentração dos reagentes, importante para a redução do consumo dos mesmos, não interferiu nos resultados como mostrado pela reprodutibilidade do método. É preciso definir quais as concentrações do ácido gálico ideais para o teste com vistas a construir a curva de calibração que vai permitir quantificar a atividade antioxidante das amostras, estabelecendo o potencial protetor da desoxirribose para as mesmas.

REFERÊNCIAS

- Ahmad, A.; Ahsan H. (2020). Biomarkers of inflammation and oxidative stress in ophthalmic disorders. *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*, v. 41, 257-271.
- Alves, C.Q.; David, J.M.; David, J. P.; Bahia, M.V.; Aguiar, R.M. (2010). Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. *Química Nova*, v. 33, 2202-2210.
- Alves, J. J. A.; Araújo, M. A.; Nascimento, S. S. Degradação da caatinga: uma investigação ecogeográfica. *Revista Caatinga*, Mossoró, v. 22, n. 3, p. 126-135, 2009.
- Araújo, D.R.C. (2015). *Anadenanthera Colubrina* var. *Cebil* (Griseb.) Altschul (Fabaceae: Mimosoideae): potencial antimicrobiano e variações nos teores de metabólitos secundários. 2015. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco - Centro de Biociências, Recife.
- Bagheri, H.; Ghasemi, F.; Barreto, G.E.; Rafiee, R.; Sathyapalan, T.; Sahebkar, A. (2020). Effects of curcumin on mitochondria in neurodegenerative diseases. *Biofactors*, v. 46, 5-20.
- Barbosa, H.M.; Albino, A.M.; Cavalcante, F.S.; Lima, R.A. (2017). Abordagem fitoquímica de metabólitos secundários em *Solanum acanthodes* (SOLANACEAE) HOOK. *South American journal of Basic Education, Technical and technological*, v. 4, 30-41.
- Barbosa, M.R.; Silva, M.M.A.; Willadino, L.; Ulisses, C.; Camara, T.R. (2014). Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Ciência Rural*, v. 44, 453-460.
- Barreiros, A.L.B.S.; David, J.M.; David, J.P. (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, v. 29, 113-123.
- Borges, A.M.R. (2017). Produtos naturais à base de plantas na prevenção e melhoria do fotoenvelhecimento cutâneo. 2017. 66f. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas) - Universidade de Algarve - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Faro.

- Budni, P.; Petronilho, F.C.; Citadini-Zanette, V.; Marcondes, C.; Zoch, A.N.; Reginatto, F.H. Dal-Pizzol, F. (2007). Estudos preliminares da atividade antioxidante do extrato hidroetanólico de folhas jovens e adultas de *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Toledo (ipê-roxo). *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 26, 394-398.
- Caetano, A. C. S. (2009). Potencial antioxidante de extratos de resíduos de acerolas (*Malpighia emarginata* D. C. em diferentes sistemas modelos e na estabilidade oxidativa de óleo de soja. 2009. 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Ciências Domésticas.
- Cheeseman, K.H.; Beavis, A.; Esterbauer, H. (1988). Hydroxyl-radical-induced iron-catalysed degradation of 2-deoxyribose. Quantitative determination of malondialdehyde. *Biochemical Journal*, v. 15, 649-653.
- Chen, C.W.; Chang, C.Y.; Chiang, SH. (2016). The inhibition effect of cell DNA oxidative damage and ldl oxidation by bovine colostrums. *Molecules*, v. 21, 12p.
- Cordeiro, J.M.P.; Félix, L.P. (2014). Conhecimento botânico medicinal sobre espécies vegetais nativas da caatinga e plantas espontâneas no agreste da Paraíba, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.16, 685-692.
- Costa, H.N.R., Dos-Santos, M.C., Alcântara, A.F.C., Silva, M.C., França, R.C., Piló-Veloso, D., 2008. Constituintes químicos e atividade antiedematogênica de *Peltodon radicans* (Lamiaceae). *Química Nova*, v. 31, 744–750.
- Cruz Monteiro, S.; Brandelli, C.L.C. (2017). Farmacobotânica: Aspectos Teóricos e Aplicação: Artmed Editora.
- Cunha, A.L.; Moura, K.S.; Barbosa, J.C.; Santos, A.F.S. (2016). Os metabólitos secundários e sua importância para o organismo. *Diversitas Journal*, v. 1, 175-181.
- Daenen, K.; Andries, A.; Mekahli, D.; Van Schepdael, A.; Jouret, F.; Bammens, B. (2019). Oxidative stress in chronic kidney disease. *Pediatric Nephrology*, v. 34, 975-991.
- Del Ré, P.V.; Jorge, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, Botucatu, v.14, n.2, p.389- 399, 2012.
- Delbone, C. A.C.; Lando, R. L. Importância ecológica e evolutiva dos principais grupos de metabólitos secundários nas espécies vegetais. Congresso de Educação do Norte Pioneiro. 10ª edição. UENP-CCNE-CLA-Campus Jacarezinho. 2010. ISSN-1808-3579.

- Ferreira Júnior, W.S. (2011). Plantas medicinais na caatinga: extrativismo, resiliência e redundância utilitária. 2011. 115 f, Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Recife.
- Gião, S.M.; Gonzalez-Snjose, L.M.; Muniz, P.; Rivero-Perez, M.D. (2008). Protection of deoxyribose and DNA from degradation by using aqueous extracts of several wild plants. *Journal of Science and Food Agriculture*, v. 88, 633-640.
- Gurib-Fakim, A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, v. 27, n. 1, p. 1-93, 2006.
- Halliwell, B.; Gutteridge, J.M.C.; Aruoma, O.I. (1987). The deoxyribose method: a simple "test tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. *Analytical Biochemistry*, v. 165, 215-219.
- Khosravi, M.; Poursaleh, A.; Ghasempour, G.; Farhad, S.; Najafi, M. (2019). The effects of oxidative stress on the development of atherosclerosis. *Biological Chemistry*, v. 400, 711-732.
- Luqman, S.; Kumar, R. (2012). Importance of deoxyribose degradation assay for evaluating hydroxyl radical scavenging activity of *Punica Extract*. *International Journal of Food Properties*, v. 15, 942-948.
- Martins, G.S.O. (2016). Caracterização química e atividade inseticida de óleos essenciais cítricos sobre *Dysmicoccus brevipes* (cockerell, 1893) (hemíptera: pseudococcidae). 2016. 43f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo - Centro de Ciências Agrárias, Vitória.
- Mota, G.S. (2016). Características anatômicas e ecológicas de casca e madeira de *Anadenanthera*. 2016. 133p. Tese (Doutorado em Botânica Aplicada) – Universidade de Lavras, Lavras.
- Moura, P.A. (2015). Screening das atividades antioxidantes e anticoagulantes de plantas do bioma Caatinga. 2015. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco - Centro de Ciências Biológicas, Recife.
- Naranjo, M.; Vélez, L.T.; Rojano, B.A. (2011). Actividad antioxidante de café colombiano de diferentes calidades. *Revista Cubana de Plantas Medicinas*, v. 6, 164-73.
- OMS. (2019). WHO global report on traditional and complementary medicine 2019. Disponível em <https://www.who.int/traditional-complementary-integrative-medicine/WhoGlobalReportOnTraditionalAndComplementaryMedicine2019.pdf?ua=1>. Acessado em 19/09/2020.

- Pereira Júnior, L.R.; Andrade, A.P.; Araújo, K.D.; Barbosa, A.S.; Barbosa, F.M. (2014). Espécies da Caatinga como alternativa para o desenvolvimento de novos fitofármacos. *Floresta e Ambiente*, v. 21, 509-520.
- Pereira, A.P.C. (2013). Avaliação das atividades antioxidante e antiinflamatória de *Commiphora leptophleas*, *Myracrodruon urundeuva* e *Anadenanthera colubrina*. 2013. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco - Centro de Biociências, Recife.
- Pereira, R.J.; Cardoso, M.G. (2012). Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, v.3, 146-152.
- Prasanth, M.I.; Sivamaruthi, B.S.; Chaiyasut, C.; Tencomnao, T. (2019). A Review of the role of green tea (*Camellia sinensis*) in antiphotaging, stress resistance, neuroprotection and autophagy. *Nutrients*, v. 11, 474.
- Primo, L.M.; Machado, I.C. (2009). A new case of late-acting self-incompatibility in *Capparis* L. (Brassicaceae): *C. jacobinae* Moric. ex Eichler, an endemic andromonoecious species of the Caatinga, Pernambuco State, Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, v. 23, 764-768.
- Queiroz, J.A.; Trovão, D.M.B.M.; Oliveira, A.B.; Oliveira, E.C.S. (2006). Análise da estrutura fitossociológica da Serra do Monte, Boqueirão, Paraíba. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, v.6, 251-259.
- Rajan, M.; Rajkumar, G.; Guedes, T.J.F.L.; Barros, R.G.C.; Narain, N. (2020). Performance of different solvents on extraction of bioactive compounds, antioxidant and cytotoxic activities in *Phoenix loureiroi* Kunth leaves. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, v. 17, 100247.
- Ramalho, V. C.; Jorge, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, v. 29, n. 4, jul. 2006.
- Rego, S.S.; Ferreira, M.M.; Nogueira, A.C.; Grossi, F.; Sousa R.K.; Brondani, G.E.; Araújo, M.A.; Silva, A.L.L. (2011). Estresse hídrico e salino na germinação de sementes de *Anadenanthera colubrina* (Veloso) Brenan. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, v. 2, 37-42.
- Romagnolo, D. F., Selmin, O.I. Flavonoids and cancer prevention: a review of the evidence. *Journal of Nutrition in Gerontology Geriatric*. v. 31, p. 206-38.
- Rufino, M.S.M. (2007). Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, p.4 (Comunicado Técnico, 127).

- Santa-González, G.A.; Camargo, M. (2016). Protección celular antioxidante y respuesta adaptativa inducida por estímulos oxidativos crónicos. *Actualidades Biológicas*, v. 38, 71-80.
- Santana, L. C. L. R.; Silva O. A.; Brito, M. R. M.; David, J. P. L.; David, J. M.; Galvão, K. C. S.; Moraes, J.; Freitas, R. M. (2013). Avaliação do potencial antioxidante, atividade antimicrobiana e antihelmíntica do extrato etanólico padronizado das folhas de *Mikania glomerata* Sprengel. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 94, 120–129.
- Seifried, H. E.; Anderson, D. E; Fisher, E. I.; Milner, J. A. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 18, n. 9, p. 567–579, 2007.
- Silva, A.C.O.; Lima, R.A. (2016). Identificação das classes de metabólitos secundários. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental Santa Maria*, v. 20, 381-388.
- Silva, E.L.G.S.; Aguiar, H.T.V.; Freitas, R.F. (2020). Estudo fitoquímico, atividade antioxidante e tóxica da casca da *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. *Biodiversidade*, v.19, 97-106.
- Silva, F.A.M.; Borges, M.F.M.; Ferreira, M.A. (1999). Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Química Nova*, v. 22, 94-103.
- Silva, M. C.C.; Santana, L. A.; Silva-Lucca, R. A.; Lima, A. L. R.; Ferreira, J. G.; Paiva, P. M. G.; Coelho, L. C. B. B.; Oliva, M. L. V.; Zingali, R. B.; Correia, M. T. S. Immobilized Cratylia mollis lectin: An affinity matrix to purify a soybean (Glycine max) seed protein with in vitro platelet antiaggregation and anticoagulant activities. *Process Biochemistry*, v. 46, n. 1, p. 74–80, 2011.
- Siqueira, C.F.Q. (2011). Teores de taninos e flavonoides em plantas medicinais da Caatinga: avaliando estratégias de bioprospecção. 2011. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Recife.
- Soares Neto, R.L. (2015). Capparaceae: flora do Rio Grande do Norte e biogeografia no semiárido brasileiro. 2015. 88f. Dissertação (Mestrado em Sistemática e Evolução) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte - Centro de Biociências, Natal.
- Soares Neto, R.L.; Magalhães, F.A.L.; Tabosa, F.R.S.; Moro, M.F.; Costa e Silva, M.B.; Loiola, M.I.B. (2014). Flora do Ceará, Brasil: Capparaceae. *Rodriguésia*, v. 65, 671-684.

- Sousa, C.M.M.; Silva, H.R.; Vieira-Jr., G.M.; Ayres, M.C.C.; Costa, C.L.S.; Araújo, D.S.; Cavalcante, L.C.D.; Barros, E.D.S.; Araújo, P.B.M.; Brandão, M.S.; Chaves, M.H. (2007). Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quimica Nova*, v. 30, 351-355.
- Stec, K.; Kozłowska, J.; Wróblewska-Kurdyk, A.; Kordan, B.; Anioł, M.; Gabryś, B. Effect of Naringenin and Its Derivatives on the Probing Behavior of *Myzus persicae* (Sulz.). *Molecules*. 2020, 25, 3185.
- Sucupira, N.R.; Silva, A.B.; Pereira, G.; Costa, J.N. (2012). Métodos para a determinação da atividade antioxidante de frutos. *Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde*, v. 14, 263-269.
- Taiz, L.; Zeiger, E. Fisiologia vegetal. 3ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.
- Umeno, A.; Biju, V.; Yoshida, Y. (2017). *In vivo* ROS production and use of oxidative stress-derived biomarkers to detect the onset of diseases such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and diabetes. *Free Radical Research*, v. 51, 413-427.
- Vasconcelos, S.M.L.; Goulart, M.O.F.; Moura, J.B.F.; Manfredini, V.; Benfato, M.S.; Kubota, L.T. (2007). Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo. *Quimica Nova*, v. 30, 1323-1338.
- Ververidis, F.; Trantas, E.; Douglas, C.; Vollmer, G.; Kretzschmar, G.; Panopoulos, N. (2007). Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products. Part I: Chemical diversity, impacts on plant biology and human health. *Biotechnology Journal*, v. 2, 1214-1234.
- Viana, M.L.; Giamminola, E.; Russo, R.; Ciaccio, M. (2014). Morphology and genetics of *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Fabaceae) tree from Salta (Northwestern Argentina). *Revista de Biologia Tropical*, v. 62, 757-767.